

プリオン持続感染細胞およびプリオン感染マウスを用いたproteinboud polysaccharide Kの抗プリオン活性成分の絞り込みと作用機序の解析

著者	濱中 大一
号	81
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第2929号
URL	http://hdl.handle.net/10097/62432

氏 名	はまなか た い ち 濱中 大一
学 位 の 種 類	博士（医学）
学位授与年月日	平成 23 年 9 月 14 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科（博士課程）医科学専攻
学位論文題目	プリオン持続感染細胞およびプリオン感染マウスを用いた proteinbound polysaccharide K の抗プリオン活性成分の絞り込み と作用機序の解析
論文審査委員	主査 教授 堂浦 克美 教授 笠井 憲雪 教授 荒井 啓行

論 文 内 容 要 旨

【背景・目的】

プリオン病は伝達性海綿状脳症とも呼ばれる致死性の神経変性疾患である。病原因子はプリオンと呼ばれるタンパク質性感染粒子とされている。近年、変異型クロイツフェルト・ヤコブで、これまで報告のなかった血液感染例が存在することが明らかとなり、プリオン病に対する予防法や治療法の開発が一層強く求められるようになってきた。今回、生物学的応答調節物質（BRM : biological response modifier）に属する抗がん剤をスクリーニングした結果、protein-bound polysaccharide K（PSK）と呼ばれるタンパク質結合多糖体に抗プリオン活性がある事が判明した。そこで PSK の作用機序と活性成分の絞り込みを進めるとともに、プリオン病患者に対する治療薬としての適用可能性について検討することにした。

【方法】

PSK の抗プリオン活性の絞り込みにはプリオン持続感染細胞を用いて、プリオン本体である異常型プリオンタンパク質（PrPres）発現量を免疫ブロット法にて解析することで行った。PSK の抗プリオン活性成分の絞り込みには、化学処理法によるタンパク質部分と糖質部分の分離、ゲルろ過クロマトグラフィーによる分子量分画化などを行い、分画化 PSK の抗プリオン活性をプリオン持続感染細胞にて評価した。また、生体内における PSK の有効性を確認するため、マウスプリオンタンパク質を過剰発現させた遺伝子組換え型プリオン病早発系マウスを用いた。スクレーピープリオン株を腹腔内感染させ PSK を皮下单回投与あるいは経口投与した場合の有効性を、マウスが不動状態に達するまでの日数を計測して解析した。

【結果】

PSK は複数のプリオン持続感染細胞に対する有効性を示した。PSK の抗プリオン活性には正常型プリオンタンパク質（PrPC）分子の細胞内代謝経路に影響を与えず、オートファジーによる分解経路なども関与していなかった。さらに、PSK は試験管内で PrPres の構造を緩解して PK に対する感受性を上げたり、PrPres を直接分解する活性も無いことが明らかとなった。腹腔内プリオン感染マウスに対して PSK 皮下单回投与では有効性を示したが、経口投与では無効であった。PSK 以外の BRM はプリオン持続感染細胞に対してもプリオン感染マウスに対しても無効であった。

【結論】

本研究により、免疫賦活剤として知られる PSK が、プリオン持続感染細胞内の PrPres 産生抑制作用を持ち、PSK の皮下投与によりプリオン感染マウスの生存期間を有意に延長させる事を明らか

となった。PSK はプリオン持続感染細胞に対して、細胞内の PrPC を PrPres に変換する過程を阻害することにより抗プリオン活性を発揮すると考えられた。PSK の抗プリオン活性には、PSK のタンパク質部分の高分子量成分が関与していることが明らかとなった。PSK 以外の BRM はプリオン持続感染細胞やプリオン感染マウスに対する有効性を示さないことから、抗プリオン活性は BRM に共通した作用ではなく、PSK に特有の作用であることが示唆された。PSK の分子量が巨大で血液脳関門通過性を期待できないことやマウス体内における PSK の有効性はプリオンの末梢感染に対して確認されたため、PSK はプリオンが末梢から中枢神経系内へ侵入するまでの過程で作用していると推測された。

ヒトのプリオン病患者への使用については、皮下投与により抗 PSK 中和抗体が産生されるため、仮に有効性が示されたとしても一過性の効果に留まる可能性がある。そのため臨床現場において、PSK のプリオン病の治療薬としての有用性は低いと思われる。

しかしながら PSK はタンパク質成分が活性をもつ数少ない抗プリオン活性物質の一つであり、さらに詳細に活性成分の同定と作用機序を明らかにしていく過程で、プリオンの複製を解明する際の手段として利用できる物質であると考えられる。

審査結果の要旨

博士論文題名 プリオン持続感染細胞およびプリオン感染マウスを用いた protein- bound polysaccharide K の
抗プリオン活性成分の絞り込みと作用機序の解析

所属専攻・分野名 医科学 専攻・ 神経化学分野

学籍番号 氏名 瀧中 大一

プリオン病は伝達性海綿状脳症とも呼ばれる致死性の神経変性疾患で、病原因子はプリオンと呼ばれるタンパク質性感染粒子である。近年、変異型ヤコブ病や医原性ヤコブ病の流行を背景に、プリオン病に対する予防法や治療法の開発が強く求められている。本論文では、生物学的応答調節物質（BRM：biological response modifier）に属する免疫賦活剤をスクリーニングし、protein-bound polysaccharide K（PSK）と呼ばれるタンパク質結合多糖体に抗プリオン活性があることを発見した。さらに、PSKの作用機序と活性成分について解析を進め、疾患モデル動物でプリオン病患者に対する治療薬として応用が可能であるかどうかを検討した。

PSKは複数のプリオン持続感染細胞に対して有効で、PSKの抗プリオン活性には正常型プリオンタンパク質(PrPC)分子の代謝やオートファジーによる分解は関与せず、プリオンの本体である異常型プリオンタンパク質(PrPres)の構造緩解やPrPresの直接分解にも関与しないことを明らかにした。PSKの抗プリオン活性には、PSKのタンパク質部分の高分子量成分が関与していた。腹腔内プリオン感染マウスに対してPSK皮下投与は有効であるもの、経口投与は無効であった。また、PSKを皮下投与したマウスにおいてPSKの抗プリオン活性を阻害する中和抗体が産生された。PSK以外のBRM薬剤に抗プリオン活性は観察されなかった。これらの結果から、PSKは細胞内のPrPCをPrPresに変換する過程を阻害することにより抗プリオン活性を発揮し、その抗プリオン活性はBRMに共通した作用ではなくPSKに特有の作用であることが示唆された。PSKの有効性はプリオンを末梢感染させた場合にのみ観察されたため、PSKはプリオンが末梢から中枢神経系内へ侵入するまでの過程で作用することが推測された。PSKの有効性は皮下投与でのみ観察され、その皮下投与では抗プリオン活性を阻害する中和抗体が産生されるため、PSKをプリオン病の治療に応用することは現実的ではないと考えられた。

本論文では、プリオンタンパク質そのものやその抗体以外で、世界で初めて抗プリオン活性をもつタンパク質性物質として PSK を発見した点が優れている。さらに詳細な活性成分同定と作用機序解明が残されているものの、プリオン病治療開発やプリオン複製機序解明において新たなツールとして発展性が期待される優れた研究成果である。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。